



Somatisk embryogense og kryopræserving af eg og bæg

MMH Kristensen, Michel; Find, Jens; Krogstrup, Peter

Publication date:
2006

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

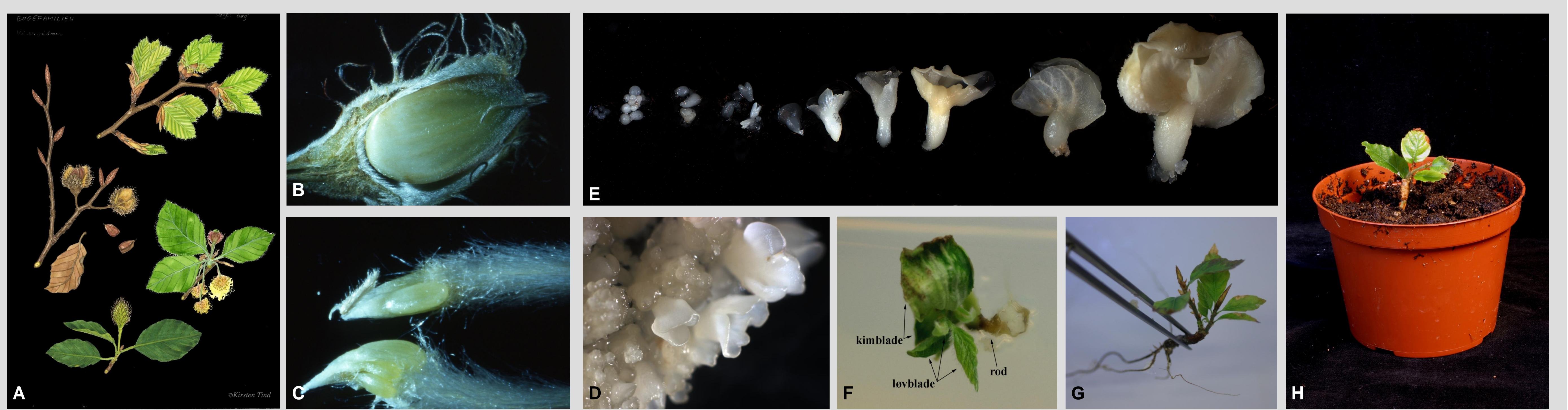
Citation for published version (APA):
MMH Kristensen, M., Find, J., & Krogstrup, P. (2006). *Somatisk embryogense og kryopræserving af eg og bæg*. Poster session præsenteret ved Somatisk embryogense og kryopræserving af eg og bæg.

Somatisk embryogenese og kryopræserving af eg og bøg

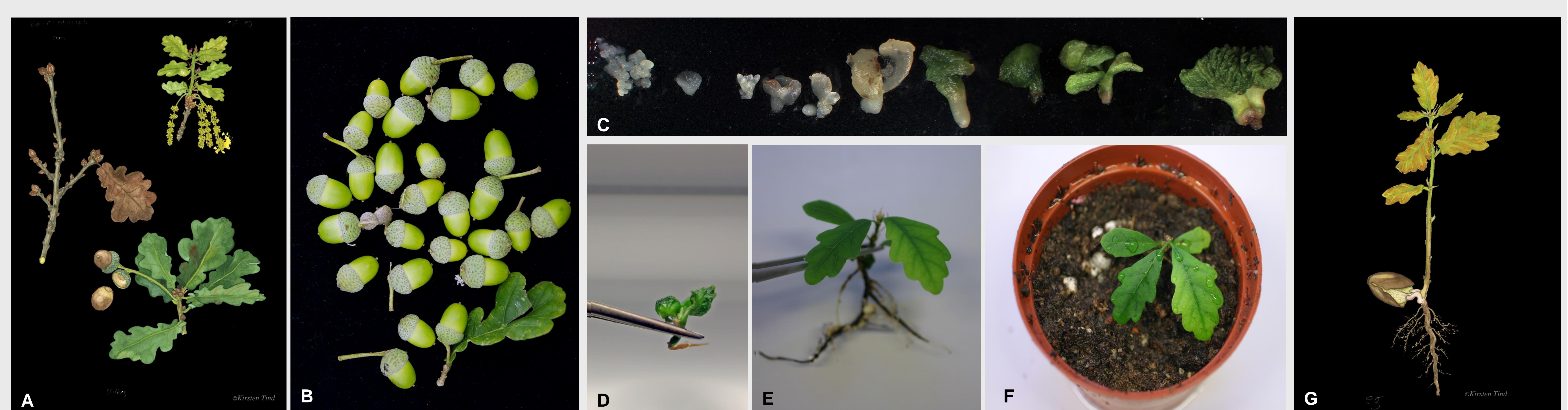
Michel M.H. Kristensen, Jens I. Find og Peter Krogstrup

Somatisk embryogenese og kryopræserving af eg og bøg

Traditionel vegetativ formering af eg og bøg er vanskeligt, dyrt og har ingen større praktisk anvendelse i skovbruget. Opbevaring af agern og bog i frøbanker er ligeledes problematisk idet spiringsevnen falder dramatisk allerede i løbet af de to første år efter høst. Desuden er frøudbyttet i Danmark oftest for ringe til at dække behovet for nyplantninger. I Botanisk Haves Vævskulturlaboratorium er der udviklet nye metoder, dels til vegetativ formering vha. såkaldt somatisk embryogenese, dels til opbevaring af somatisk kim i flydende kvælstof, hvor holdbarheden er flere hundrede år. Arbejdet med eg og bøg er en del af et større projekt, *Videreudvikling af bioteknologiske metoder, med henblik på forædling og opbevaring af plantegenetiske ressourcer for skovtræer i Danmark 2003-2006*. Det overordnede formål med projektet var at udvikle metoder til vegetativ formering og opbevaring af somatiske kim. Resultaterne kan nu tilbydes skovbruget som supplement til de traditionelle metoder som i dag anvendes til formering, forædling og opbevaring af plantegenetiske ressourcer. Projektet indeholdt desuden mål, der primært havde karakter af grundforskning, fx kernetransplantationer. Projektet blev finansieret af VILLUM KANN RASMUSSEN FONDEN med 3.3 mio. kr.; bevillingshaver professor Ole Hamann, Botanisk Have, København.



FIGUR 1. A: Frugten hos bøg kaldes bog og består af en pigget skål med fire klapper, der åbner sig ved modenhed. Frugterne høstes umodne mens de endnu sidder på træerne. Det skyldes, at det generelt er lettere at starte somatisk embryogenese fra umodne kim. **B:** I skålen sidder to trekantede nødder, hvoraf den ene ses her. **C:** Umodne nødder indeholder seks kim fæstnet til en lang, håret frøstol. På billedet ses kimene fra begge nødder. **D:** Når kimene overføres til et såkaldt initierings- og proliferationssubstrat dannes der en hvid, slimet embryogen masse. Efter overførsel til et modningssubstrat danner den embryogene masse somatiske kim i periferien. **E:** Fra venstre mod højre ses udviklingen fra de tidlige, små globulære stadier på proliferationssubstrat til ældre bilateralt symmetriske kim, der dannes på modnings- og spiringssubstrat. **F:** Udviklingen af kimplanter hos bøg via somatisk embryogenese har flere lighedspunkter med udviklingen hos frøplanter. Det gælder, fx dannelsen af kimblade der i form og størrelse adskiller sig fra de senere løvblade. **G:** Plante med veludviklet rodsystem, løvblade og bladknopper. **H:** Plante i pottejord.



FIGUR 2. A: Frugterne hos eg kaldes agern. Det er nødder, der ved modenhed er brunlige og 2-3 cm. lange hos vinter- og stilkeg; nødden sidder i en lille skål. Hos stilkeg har skålen en lang stilk, heraf navnet, mens skålen hos vinterreg sidder direkte på grenen. **B:** Umodne, grønne agern af stilkeg plukket direkte fra træerne. Hvert agern rummer en kim med to, meget store kimblade fyldt med oplagsnæring. Kimen (uden kimblade) overføres til et initierings- og proliferationssubstrat og danner her en slimet embryogen masse (ikke vist). **C:** Fra venstre mod højre ses den somatiske kimudvikling fra tidlige, små globulære stadier til ældre kim med store furede kimblade. Dette udviklingsforløb ligner den naturlige kimudvikling i et frø. **D-F:** Kimplanter dannet ved somatisk embryogenese. **G:** Til sammenligning ses her en nyspiret frøplante. De store kimblade forbliver i frøskallen lige under jordoverfladen og forsyner den spirende plante med næring indtil løvbladene er fuldt udviklede.

Introduktion

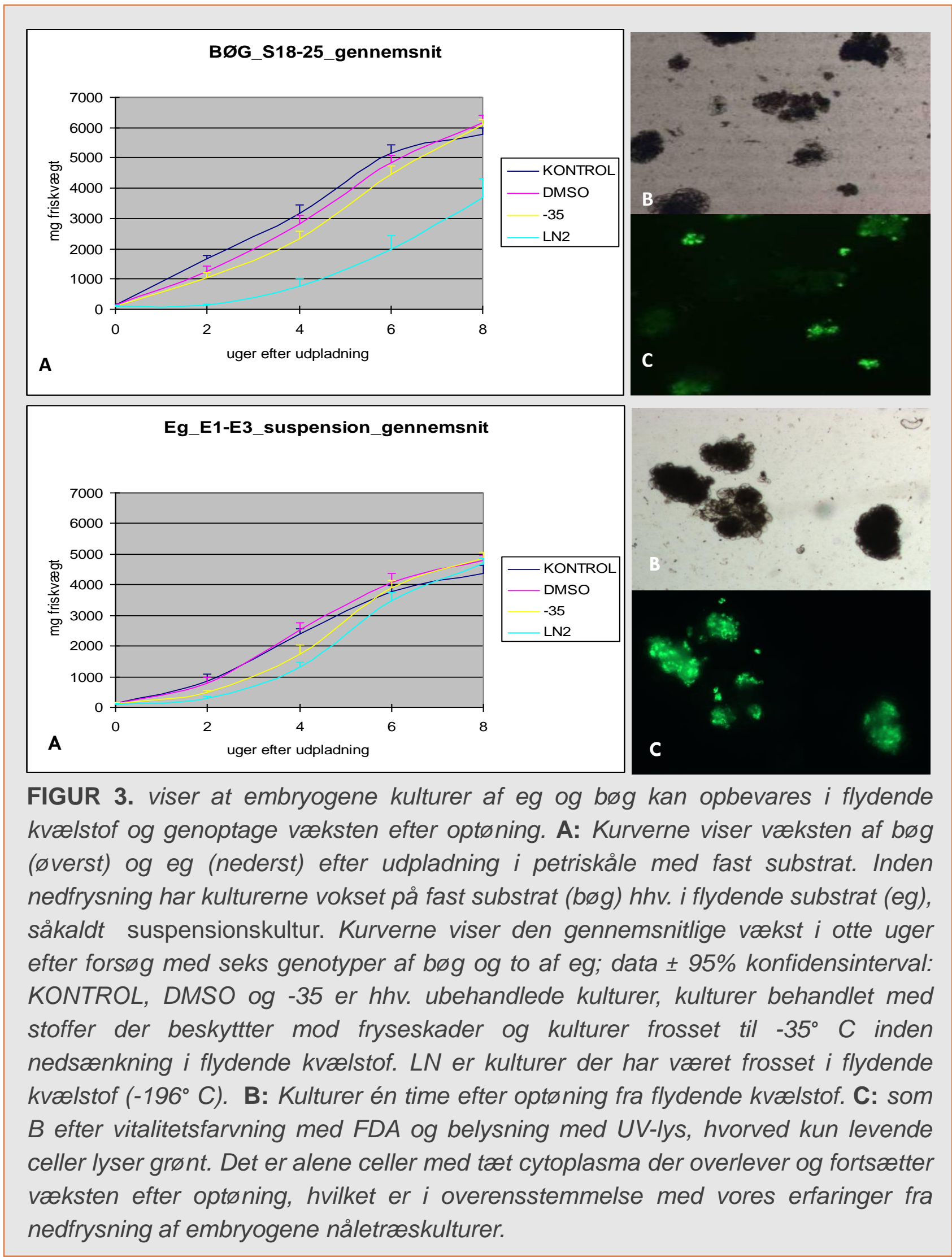
Denne poster beskriver resultaterne fra udviklingen af et samlet *in vitro* system til formering og langtidsopbevaring af vores traditionelt vigtigste løvtræerarter. Bøg dækker ca. 80.000 ha. og er dermed det mest udbredte løvtræ i skovene. På andenpladsen ligger eg, der udgør 43.000 ha. Samlet dækker eg og bøg næsten ¾ af det danske løvtræareal (Skov- og Naturstyrelsen, 2000).

Problem

Vegetativ formering af eg og bøg vha. stiklinger og podninger er både vanskeligt og dyrt og har ingen større praktisk anvendelse i skovbruget i Danmark. Teknikkerne bruges til etablering af frøplantager, hvoraf der kun er få af eg og ingen af bøg. Nyplantninger i skovbruget sker primært med planter fra indsamlede frø. Problemet er, at kårede bevoksninger med eg og bøg i Danmark har for lille frøsetning eller giver for sjældent frø til at dække behovet for nyplantninger. Yderligere kan et eventuelt overskud af frø i et enkelt år ikke opbevares til senere brug. Normalt kan agern kun gemmes vinteren over og bog kun et år, før der sker et markant fald i spiringsevnen. Dette betyder, at der ikke kan gemmes frø fra de store oldenår. Bl.a. derfor har den danske frøproduktion i årene 1990-1995 kun udgjort 34% for bøg og 31% for stilkeg, resten blev importeret (SKOVEN 10/1996). Metoderne til lagring bliver stadig bedre, og det er i dag muligt under særlige omstændigheder at opbevare olden i op til fire år (Pedersen, 1996) og bog op til seks år, men der er behov for forbedringer (SKOVEN 10/2000).

Løsning

Til løsning af problemerne med traditionel vegetativ formering og de mangelfulde lagringsmuligheder har vi dels udviklet et nyt system til vegetativ formering kaldet *somatisk embryogenese* (SE), dels fundet en metode til nedfrysning og opbevaring, *kryopræserving*, af bølge- og egekim i flydende kvælstof. (fortsættes)



Den forventede holdbarhed af kryopræservede kim er flere hundrede år. Derved er det muligt mange generationer fremover at bevare kim fra træer med særlig god vækstform, høj sygdomsresistens eller som har stor kulturhistorisk interesse. Fremgangsmåden er kort fortalt, at der fra umodne frø udpilles kim som opformeres i sterile kulturer, ved en særlig form for vegetativ formering kaldet *somatisk embryogenese* (se FIGUR 1. og 2). Kulturer med somatiske kim af eg og bøg kan i modsætning til hele frø af eg og bøg nedfryses og opbevares i flydende kvælstof (se FIGUR 3.). Efter optøning deler de somatiske kim sig på ny, og der kan regenereres planter fra de optøede kulturer. Somatisk embryogenese gør det samtidig muligt at producere planter året rundt uafhængigt af årstiden.

Anvendelse af resultaterne:

Somatisk embryogenese i eg og bøg kan som andre systemer med SE anvendes til grundlæggende anatomiske- og fysiologiske studier i plante-embryologi. Dertil kommer den praktiske anvendelse:

- SE kan bruges til vegetativ opformering af frø-materiale i stor målestok
- Vegetativ opformering vha. SE kræver kun lidt plads og er uafhængig af årstiden
- Teknikken er stadig dyr sammenlignet med frøformering, men omkostningerne kan nedbringes i et kommercielt laboratorium bl.a. gennem brug af robot-teknikker som det kendes fra SE-systemet i nordmannsgran.
- Embryogene kulturer fra træer med gode vækstdata kan opbevares i flydende kvælstof i en kryogenbank. Metoden er relativt billigt og opbevaringstiden er flere hundrede år længere end i en konventionel frøbank med eg og bøg.

Resultaterne fra bøg kan bruges i dag, mens der stadig kræves en del udvikling før somatisk embryogenese i eg kan bruges i praksis.